

## Penggunaan Kultur Starter Bakteri Asam Laktat pada Pengolahan Sosis Fermentasi Ikan Lele Dumbo yang Diinfeksi *Listeria monocytogenes* ATCC-1194

Happy Nursyam\*

Jurusan Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang

### Abstrak

Penggunaan biopreservatif bakteri asam laktat pada bahan makanan sangat efektif dalam mengontrol pertumbuhan bakteri patogen dan mikroorganisme pembusuk. Bakteri asam laktat pada produk fermentasi, selain berperan sebagai biopreservatif juga berperan penting dalam meningkatkan kualitas nutrisi bahan mentah yang difermentasi. Penelitian ini merupakan kajian tentang penggunaan kultur starter *Pediococcus acidilactici*; *Lactobacillus casei*; dan kombinasi *Pediococcus acidilactici* dan *Lactobacillus casei*; serta tanpa starter kultur sebagai kontrol, terhadap karakter biopreservatif sosis fermentasi ikan lele dumbo yang diinfeksi *Listeria monocytogenes* selama pematangan 28 hari pada suhu inkubasi 15-22 °C. Berdasarkan hasil penelitian diketahui komponen biopreservatif yang dihasilkan didominasi oleh senyawa alkohol, keton, asam-asam lemak, ester dari asam lemak, fenol, benzene, dan senyawa volatil lain. Fenol merupakan senyawa yang terbanyak. Semakin besar rasio C15:0/C17:0 dalam sosis fermentasi ikan lele dumbo, pertumbuhan *Listeria monocytogenes* makin sedikit. Sosis yang difermentasi menggunakan kombinasi *Pediococcus acidilactici* dan *Lactobacillus casei* starter memiliki rasio C15:0/C17:0 terbesar, dan mampu mematikan pertumbuhan *Listeria monocytogenes*. Rasio C15:0/C17:0 dengan nilai 79,84 merupakan dosis yang mematikan bagi *Listeria monocytogenes* pada suhu inkubasi 15-21,2 °C secara *in vitro*.

**Kata kunci:** BAL, biopreservatif, Ikan Lele Dumbo, *Listeria monocytogenes*

### PENDAHULUAN

Sosis ikan merupakan sebuah produk, yang berasal dari daging ikan segar dicampur dengan beberapa aditif, kemudian dimasukkan ke dalam casing dan diproses melalui pemanasan [1]. Pengolahan sosis ikan mulai berkembang pesat pada tahun 1950 sampai 1975 di Jepang, dan merupakan pengembangan dari industri kamaboko [2]. Perlakuan panas yang diberikan pada pengolahan sosis ikan pada suhu 88 – 90 °C selama 45 menit, belum cukup untuk membunuh atau menghambat pertumbuhan spora bakteri pembusuk, sehingga pada era tahun 1980 dikembangkan penggunaan suhu tinggi, namun masih terjadi hambatan terutama biaya yang sangat tinggi dan menurunnya karakter tekstur produk akhir [3].

Penggunaan strain bakteri penghasil bakteriosin sebagai kultur starter atau protektif kultur, akhir-akhir ini banyak dikembangkan dan mampu mengontrol keberadaan bakteri patogen

maupun bakteri pembusuk dalam produk pangan siap saji (Hugas, 1995). Kultur strain yang digunakan sebagian besar berasal dari bakteri asam laktat, antara lain *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, dan *Carnobacterium*, tetapi penggunaan kultur starter BAL yang tidak tepat belum mampu menghambat pertumbuhan *Listeria monocytogenes* pada sosis [4, 5, 6, 7, 8, 9].

Penggunaan biopreservatif bakteri asam laktat ke dalam sistem pangan terlihat sangat efektif dalam mengontrol pertumbuhan bakteri patogen dan mikroorganisme pembusuk. Bakteri asam laktat pada produk fermentasi, selain berperan sebagai biopreservatif juga penting peranannya dalam meningkatkan kualitas nutrisi bahan mentah yang difermentasi [10]. Penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri patogen dan pembusuk diakibatkan oleh biopreservatif yang diproduksi bakteri asam laktat, seperti asam laktat, asam asetat, hidrogen peroksida, diasetil dan bakteriosin [11]. Bakteri yang memproduksi bakteriosin sebagai antimikroba terhadap *Listeria monocytogenes* diantaranya *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus bavaricus*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus*

\* Alamat Korespondensi

Happy Nur Syam

E-mail : happy\_nursyam@yahoo.com

Alamat : Jurusan Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Jl.Veteran, Malang

sake, *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc carnosum*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Carnobacterium piscicola*, *Pediococcus acidilactici*, *Propionibacterium thoenii*, dan *Enterococcus* spp. [10]. Penelitian ini merupakan kajian tentang penggunaan kultur starter *Pediococcus acidilactici* 0094<TGA-3; *actobacillus casei* NRRL-B1992; dan kombinasi *Pediococcus acidilactici* 0094<TGA-3 dan *actobacillus casei* NRRL-B1992; serta tanpa starter kultur sebagai kontrol, terhadap karakter biopreservatif sosis fermentasi ikan lele dumbo yang diinfeksi *Listeria monocytogenes* ATCC-1194 selama 28 hari pada suhu inkubasi 15-22 °C.

## METODE PENELITIAN

### Kultur bakteri

*Pediococcus acidilactici* 0094<TGA-3 (PA), *Lactobacillus casei* NRRL-B1992 (LC), dan *Listeria monocytogenes* ATCC-1194 (LM), diperoleh dari PAU (Pusat Antar Universitas) pangan dan gizi, Universitas Gadjahmada-Yogyakarta. PA dikultur pada MRS broth (Oxoid) suhu 30 °C, dan *Listeria monocytogenes* pada BHI broth (Oxoid) yang ditambahkan NaCl 3% pada suhu 37 °C. Sel bakteri dipanen setelah 24 jam inkubasi, dan dilarutkan ke dalam pepton 0,1% steril untuk mendapatkan konsentrasi yang diinginkan.

### Preparasi sosis

Lele dumbo segar (*Clarias gariepinus*) yang didapat dari penangkar kota Batu-Jawa Timur dipotong kepalanya, dikuliti dan difilet, kemudian dicincang menggunakan blender (Phillip), selanjutnya *preblending*. Formula sosis untuk 1000 gram lele adalah: NaCl 20 g, sodium nitrat 0,2 g, sodium nitrit 0,1 g, sukrosa 4 g, glukosa 3 g, fruktose 3 g, lada putih 1 g, lada hitam 1 g, lengkuas 0,7 g, jahe 0,7 g, kayu manis 0,6 g, bawang putih 0,5 g, dan cengkeh 0,5 g. Resep tersebut diambil berdasarkan Aryanta, *et al.*, (1991), dengan modifikasi formula dan proses oleh Nursyam, *et al.*, (2006 dan 2007) [12, 13, 14]. Semua bahan tersebut dicampur dengan lele cincang, kemudian ditambahkan kultur starter *P. acidilactici* dan *Lactobacillus casei* masing-masing  $10^8$  cfu/ml<sup>-1</sup> sebanyak 2 ml untuk 500 g daging. *Listeria monocytogenes* ATCC-1194 masing 2 ml  $10^5$  cfu/ml<sup>-1</sup> diinokulasikan secara individual kedalam sosis, selanjutnya adonan dimasukkan casing kolagen diameter 2 cm sepanjang 10 cm, pra-inkubasi, pengasapan, dan diinkubasi pada suhu komersial (15-22 °C) selama 28 hari.

### Analisa Biopreservatif

Kajian biopreservatif sosis fermentasi ikan lele diamati melalui 2 percobaan yaitu identifikasi

komponen biopreservatif menggunakan GC-MS (Shimadzu 20), dan pengujian *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) biopreservatif terhadap *Listeria monocytogenes* secara *in-vitro*. Pengujian komponen biopreservatif dianalisis dengan menggunakan "*Gas Chromatography Mass Spectrometri*". Sebanyak 2 µL sampel sosis hasil refluksi diinjeksikan dalam GCMS (Shimadzu QP2010S).

*Minimum Bactericidal Concentration* komponen biopreservatif terhadap *survival* (log) *Listeria monocytogenes*, dianalisis berdasar modifikasi metode dari Nichols *et al.*, (2003) untuk persiapan media, Erkkila *et al.*, (2001) untuk *survival Listeria monocytogenes*; dan Kronvall (1982) untuk penarikan MBC [9, 15, 16]. *Survival Listeria monocytogenes* terhadap rasio C15:0/C17:0 diukur menggunakan metode *spread*, setelah ditaman dan diinkubasi 48 jam pada media TSA-Oxoid 37 °C. Minimum konsentrasi antimikroba bagi *Listeria monocytogenes* dari asam lemak didefinisikan sebagai rasio C15:0/C17:0 yang tidak terdapat pertumbuhan koloni *Listeria monocytogenes* setelah diinkubasi 48 jam pada suhu 37 °C [17].

### Analisis Data

Data dianalisis secara deskriptif berdasarkan rerata ± standar deviasi diantara variabel independen percobaan, menggunakan *microsoft excell*.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis Kromatogram senyawa volatil dan asam lemak sosis fermentasi ikan lele dumbo, disajikan pada Tabel 1. Data dalam Tabel 1 menunjukkan bahwa fenol dan derivat fenol merupakan komponen terbanyak pada semua jenis sosis. Hal ini disebabkan fenol adalah senyawa *pyrolysis* dari lignin tempurung kelapa yang mampu terikat dalam asam-asam lemak. Hamm (1977) menyatakan bahwa semakin tinggi keasaman suatu produk, makin tinggi fenol yang terikat [18]. Terbentuknya senyawa metil-palmitat pada sosis, diduga akibat interaksi antara asam palmitat (C16:0) dengan minyak atsiri yang terkandung dalam ketumbar. Harris *et al.*, (1989) menyatakan bahwa ketumbar (*Coriandrum sativum*) mengandung 0,5% - 1% minyak atsiri [6].

Sosis yang difermentasi menggunakan kombinasi *Ped. acidilactici* dan *Lb. casei* starter (kolom VI) mengandung lebih banyak senyawa alkohol, asam, phenol, dan benzene. Sosis yang difermentasi menggunakan kultur starter *Ped.*

*acidilactici* (kolom V) lebih banyak mengandung senyawa keton; sedangkan indigenous sosis (kolom IV) lebih banyak pada senyawa ester. Apabila dibandingkan dengan *reference* (kolom III), sebagian besar masih berada dibawahnya, kecuali phenol, asam lemak, dan toluene. Komponen *volatil* dan asam lemak pada sosis fermentasi ikan lele dumbo ini rendah diduga enzim eksogeneus (protease dan lipase) dari BAL tidak cukup untuk memunculkan *volatil* dan asam lemak yang lebih banyak.

Senyawa *volatil* dan asam lemak sosis fermentasi terbanyak adalah fenol, kemudian keton, asam lemak, ester, fenol, benzene, alkohol, dan *benzene acetic acid* (Tabel 1.). Montel *et al.* (1999), menyatakan *volatil* dan asam lemak dibentuk oleh reaksi enzimatis (glikolisis, proteolisis, oksidatif deaminasi, transaminasi, dan dekarboksilasi) atau proses kimia (oksidasi lemak, degradasi protein, dan reaksi Maillard) yang terjadi selama pematangan sosis [19].

**Tabel 1.** Data kadar senyawa *volatil* dan asam lemak (ppm) sosis fermentasi ikan lele dumbo pada ahir inkubasi

					<i>Listeria monocytogenes</i>					
No.	Komponen lemak	<i>volatil</i> dan asam	Rumus Molekul	Refe- ren	<i>Tanpa</i>			<i>Diinfeksi</i>		
					<i>Starter Kultur Sosis</i>					
					Indige nous	PA	PA+LC	Indige nous	PA	PA+LC
I	II			III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
1.	Alkohol	Furyl alkohol Ethanol JUMLAH	C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub> C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O	191 <sup>b</sup> 44 <sup>a</sup>	14 24 14	15.5 31 39.5	9 31 40	17 33.6 50.6	11,5 31,5 43	29 55 84
2.	Keton	Corylone 3-Ethyl-2-hydroxy-2- cyclopentene-1-one 3-Decen-2-one; ethanon JUMLAH	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub> C <sub>7</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub> C <sub>11</sub> H <sub>21</sub> N O	276 <sup>a</sup> Nd Nd	56 27 13.5	72.5 32 20	65 31.5 12.5	55 28 16.8	52,5 31,5 15,5	55,5 6 19
3.	Fatty Acids	Pentadecanoic acid Hexadecanoic acid JUMLAH	C <sub>15</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub> C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	37 <sup>a</sup> 186 <sup>a</sup>	430 222.5 652,5	418 162 580	588.5 186 774,5	494.5 171.5 666	588 228,5 814,5	192,5 141 333,5
4.	Ester - Fatty acid	Hexadecanoic acid; Methyl ester Dodecanoic acid; Ethyl ester JUMLAH	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub> C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	209 <sup>a</sup> 351 <sup>b</sup>	254 44,5 298,5	138 28 166	40,5 46 86,5	128 46.5 174,5	116.5 48,5 165	- 52,5 52,5
5.	Phenol	Phenol Guajol Eugenol Isoeugenol 2-methoxy-4-methyl- phenol 4-ethyl-2-methoxy- phenol 4-methyl-phenol 3-methyl-phenol 2-methyl-phenol JUMLAH	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub> C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub> C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub> C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub> C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub> C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O	121 <sup>a</sup> 182 <sup>b</sup> 99 <sup>b</sup> 207 <sup>a</sup> 264 <sup>b</sup>	1529 383 445,5 131 221,5	1738,5 397 426,5 110,5 218	1656 361,5 435,5 95,5 199	1512 366,5 486,5 125 220	1483,5 380,5 458 103 207,5	1516 465 586,5 155,5 272
		2-methoxy-4-methyl- phenol 4-ethyl-2-methoxy- phenol 4-methyl-phenol 3-methyl-phenol 2-methyl-phenol JUMLAH	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub> C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub> C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O	264 <sup>b</sup> 654 <sup>b</sup> 52 <sup>a</sup> 123 <sup>a</sup> 93 <sup>a</sup>	221,5 139 124,5 70,5 70	218 134 136,5 74,5 59,5	199 118 132 78,5 68	220 156 139,5 75 75	207,5 133,5 136 68,5 75	272 186 145 76 88,5
6.	Benzene	Toluene Syringol JUMLAH	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub> S C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	24 <sup>a</sup> 152 <sup>b</sup>	160,5 644,5 805	180,5 609 789,5	173 646 819	170 661 831	174,5 624,5 799	182,5 658,5 841
7.	Various volatil	Benzene acetic acid	C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	93 <sup>b</sup>	14,5	5,5	13,5	16,5	15	25,5
Rasio		C15:0/C17:0			1,69	3,03	14,53	3,86	5,05	*

**Keterangan:**

LM : *Listeria monocytogenes*

PA : *Pediococcus acidilactici*

LC : *Lactobacillus casei*.

<sup>a</sup>) : Schmidt dan Berger (1998)

<sup>b</sup>) : Ansoerena, *et al.* (2000)

Nd : No data

<sup>\*</sup>) : Tidak terhitung

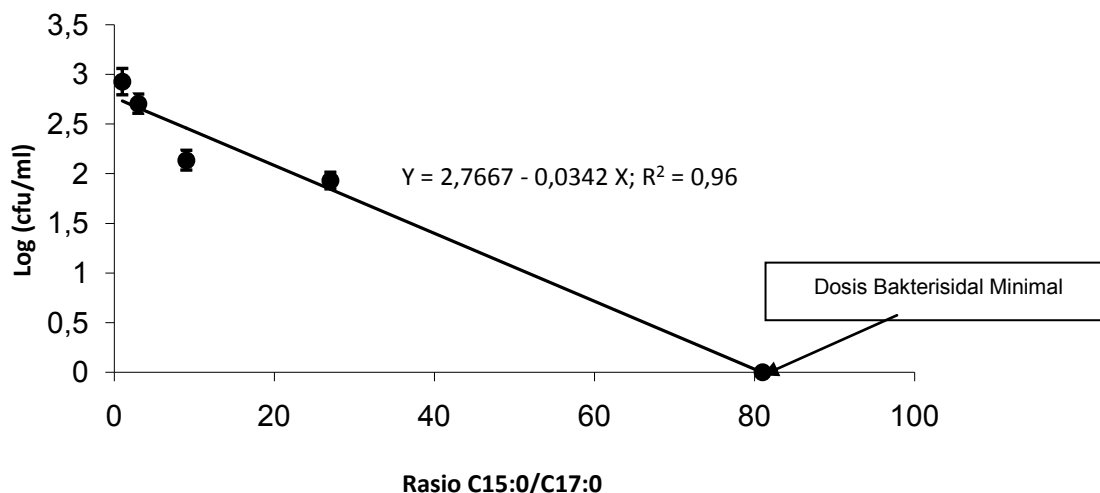
Metil palmitat sosis kombinasi *Pediococcus acidilactici* dan *Lactobacillus casei* starter (tanpa diinfeksi *Listeria monocytogenes*) lebih kecil dibanding sosis indigenous dan *Ped. acidilactici* starter. Begitu juga yang diinfeksi *Listeria monocytogenes*, kecuali sosis kombinasi *Ped. acidilactici* dan *Lb. casei* starter (kolom IX) tidak dijumpai senyawa *hexadecanoic acid-metil ester* (metil palmitat). Menurut Sasser (1990), metil palmitat terletak diantara prokariot *Listeria monocytogenes* [20]. Welch (1991), menyatakan bahwa *L. monocytogenes* dikarakterisasi oleh ranting ikatan CFAs yang panjangnya 15 dan 17 [21]. *Listeria monocytogenes* disusun oleh C<sub>15</sub> dan C<sub>17</sub> sebagai komponen utama, dan 88% asam lemak yang terkandung bersifat polar-lipid, 46% sebagai anteiso C15:0; 24% sebagai anteiso C17:0; dan 11% sebagai iso C15:0 [22]. Persentase komponen C17:0 meningkat linier seiring dengan peningkatan pertumbuhan pada kondisi lingkungan yang sesuai [15].

Semakin besar rasio C15:0/C17:0 pada sosis fermentasi, semakin sedikit kandungan *Listeria monocytogenes* (Tabel 1) pada sosis fermentasi. Hal ini mengindikasikan hidro-fobisitas berperan dalam transportasi lipid ke dalam membran sel *Listeria monocytogenes*. Tabel 5.19 (kolom VI) tertera bahwa rasio C15:0/C17:0 lebih besar dibanding indigenous dan *Ped. acidilactici* starter (kolom IV dan V). Keadaan ini menyebabkan karakter C15:0 yang kurang hidrofobik dibanding C17:0 berperan semakin kuat, sehingga transfer lipid melalui membran fosfolipid *Listeria monocytogenes* menjadi berkurang. Kondisi ini memperkuat hasil percobaan 8 (Gambar 1), bahwa *Listeria monocytogenes* tidak mampu

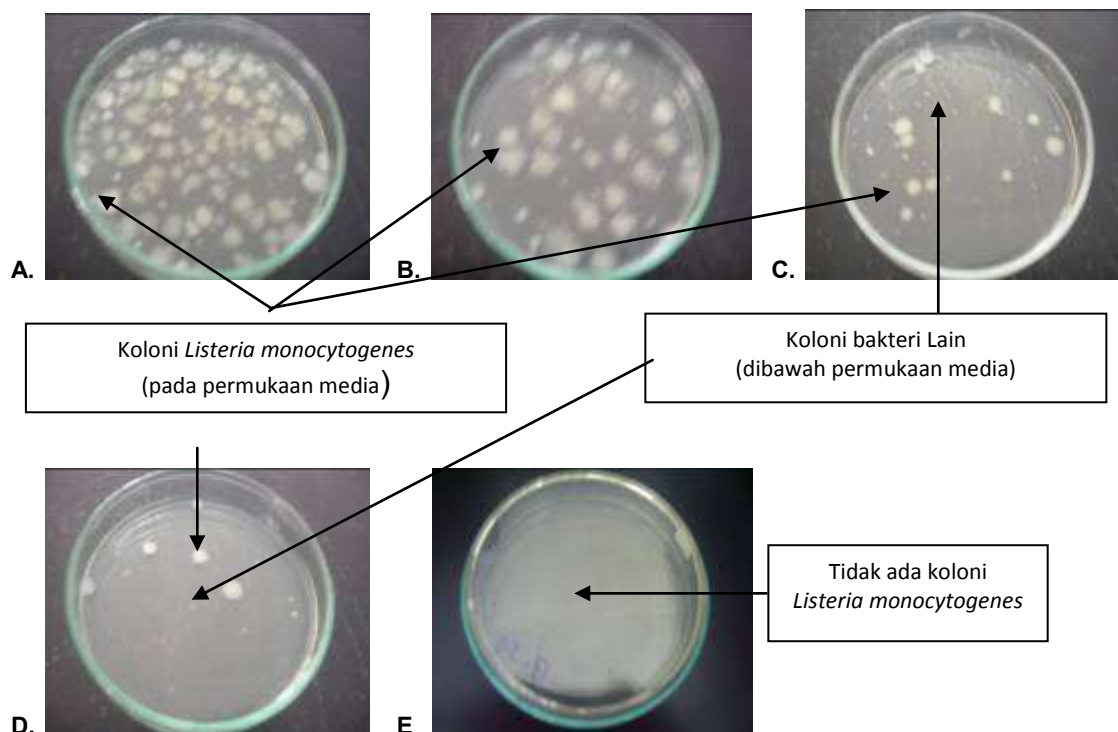
beraktifitas, dan akhirnya mati. Rasio 1,69 pada indigenous sosis (kolom IV) adalah paling hidrofobik dibanding lainnya, sehingga *Listeria monocytogenes* dapat tumbuh dan berkembang biak (Tabel 1).

Membran sel bakteri gram negatif terdiri dari *bilayer fosfolipid* [23]. Semakin berkurang karakter hidrofobik asam lemak C15:0/C17:0 semakin sulit menembus fosfolipid bilayer. Membran fosfolipid terdiri dari rantai *acyl* yang bersama-sama membentuk kesatuan yang kuat dan molekul air mampu berpenetrasi ke dalamnya. Protein dikirim kedalam membran melalui matriks fosfolipid, juga di degradasi dan dikeluarkan dari membran dengan adanya enzim proteolitik [21]. Komposisi dan tipe asam lemak bakteri dibedakan pada derivat rantai karbon dari gliserol. Derivat yang terbentuk adalah *dimetil acetat* dan *metil ester* [25].

Perubahan rasio protein atau lemak dan asam lemak jenuh atau tidak jenuh dalam membran lipid *L. monocytogenes*, dapat mempengaruhi fluiditas membran fosfolipid [22]. Oleh karena ketersediaan *hexadecanoic acid* (Tabel 1) pada sosis yang difermentasi dengan kombinasi kultur starter *Pediococcus acidilactici* dan *Lactobacillus casei* (kolom VI) lebih kecil dibanding dua sosis lainnya (kolom IV dan V) menyebabkan *Listeria monocytogenes* tidak dijumpai pada akhir fermentasi (kolom IX). Hal ini sesuai dengan pernyataan Mastronicolis, *et al.* (1996), bahwa penurunan proporsi C17:0 anteiso berpengaruh terhadap aktifitas transpor dalam membran lipid, sehingga tidak tercapainya rasio C15:0/C17:0 yang seharusnya 1,5 menyebabkan penurunan pertumbuhan *L. monocytogenes* [24].



**Gambar 1.** Plot kuadrat penghambatan kelangsungan hidup (log) *Listeria monocytogenes* terhadap rasio C15:0/C17:0.  
- : data pengamatan. Bar adalah SD.



**Gambar 2.** Koloni *Listeria monocytogenes* pada media blood agar; Merck (Pengenceran  $10^{-1}$ ). Rasio C15:0/C17:0 = 1 (A); 3 (B); 9 (C); 27 (D); dan 81 (E). Foto diambil pada 48 hari inkubasi menggunakan kamera digital "Logitech" 510.

Hasil pengujian rasio C15:0/C17:0 terhadap kelangsungan hidup *Listeria monocytogenes* yang diinkubasi pada suhu 15-21,2 °C, terdapat pada Gambar 1 dan 2. Berdasarkan persamaan garis regresi pada Gambar 1, diperoleh bahwa rasio C15:0/C17:0 dengan nilai 79,84 merupakan *Minimum Bactericidal Concentration* bagi *Listeria monocytogenes*, dan pada rasio tersebut tidak ditemukan pertumbuhan *Listeria monocytogenes*.

Hal ini diduga semakin panjang rantai atom C dari asam-asam lemak, solubilitasnya semakin menurun, dan semakin sulit menembus membran sitoplasma. Semakin hidrofobik asam-asam lemak masih cukup untuk berinteraksi dengan hidrofobik protein dan lemak-lemak pada permukaan sel bakteri. Nichols *et al.* (2002) menyatakan bahwa suhu inkubasi berpengaruh terhadap pertumbuhan serta kebutuhan C15:0 dan C17:0 bagi *Listeria monocytogenes* [15]. Pertumbuhan *L. monocytogenes* pada suhu inkubasi 15-21,2 °C adalah pada fase lag. Kebutuhan C17:0 lebih tinggi dibanding C15:0. Komposisi asam-asam lemak C17:0 *Listeria monocytogenes* dibedakan menjadi 3 region, yaitu *supraoptimal* (42 dan 45°C); *optimal* (37°C); dan *suboptimal* (30, 20, 10, dan 5 °C) [22]. Ross *et*

*al.* (2000), menyatakan bahwa C15:0 merupakan agen aktifitas membran sel dan dalam konsentrasi tinggi akan merusak fungsi membran sitoplasma, sehingga sel *Listeria monocytogenes* mati [26]. Asam-asam lemak mempengaruhi permeabilitas sel dan transpor nutrisi. Sejumlah mikromol asam-asam lemak dapat berpengaruh terhadap aktifitas enzim dalam membran sel. Asam lemak *polyunsaturated* juga dilaporkan menghambat mikroba melalui autooksidasi dan formasi peroksida [27]. Knapp and Melly (1986) melaporkan bahwa pengaruh bakterisidal dari asam lemak *polyunsaturated* dijumpai oleh proses peroksidasi yang melibatkan hidrogen peroksida, dan ion Fe dari bakteri. Penelitian yang dilakukan ini memperlihatkan bahwa C15:0 lebih menghambat *Listeria monocytogenes* dibandingkan C17:0, hal ini berhubungan dengan mekanisme peroksidasi [28].

#### KESIMPULAN

Semakin besar rasio C15:0/C17:0 dalam sosis fermentasi ikan lele dumbo, pertumbuhan *Listeria monocytogenes* makin sedikit. Sosis yang difermentasi menggunakan kombinasi *Pediococcus acidilactici* dan *Lactobacillus casei* starter memiliki rasio C15:0/C17:0 terbesar, dan

mampu mematikan pertumbuhan *Listeria monocytogenes*. Rasio C15:0/C17:0 dengan nilai 79,84 merupakan dosis antilisterial (*Minimum Bactericidal Concentration*) pada suhu inkubasi 15-21,2 °C secara *in-vitro*.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Choupohuk, P., N. Raksakulthai, and Worawattanamateekul, 2001. Process Development of Fish Sausage. *Int. Journal of Food Properties*. 4 (3): 523 – 529.
2. Kurokawa, T., 1979. Kamaboko-forming ability of frozen and ice stored lizard fish. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*. 45:1551 –1555.
3. Raju, C.V., Shamasundar, B.A., and Udupa, K.S., 2003. The Use of Nisin as a Preservative in Fish Sausage Stored at Ambient (28 °C) and refrigerated (6 °C) Temperature. *Journal of food Sci.* (38): 171-185.
4. Hugas, M., M. Garriga, T. Aymerich, and J.M. Montfort, 1995. In-hibition of *Listeria* in dry fermented sausages by the bacteriocinogenic *Lactobacillus sake* CTC494. *J. Appl. Bacteriol.* 79, 322– 330.
5. Sobrino, O.J., Rodriguez, J.M., Moreira, W.L., Fernandez, M.F., Sanz, B., Hernandez, P.E., 1991. Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from dry fermented sausages. *Int. J. Food Microbiol.* 13, 1– 10.
6. Harris, L.J., Daechel, M.A., Stiles, M.E., Klaenhammer, T.R., 1989. Antimicrobial activity of lactic acid bacteria against *Listeria monocytogenes*. *J. Food Prot.* 53, 384–387.
7. Klaenhammer, T.R., 1993. Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.* 12, 39–86.
8. Muriana PM, Klaenhamer TR., 1991. Purification and partial characterization of lactacin F, a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus* 11088. *Appl. Environ. Microbiol.* 57:114-121.
9. Erkkila, S, Petaja, E. 2001. Screening of commercial meat starter cultures at low pH and in the presence of bile salts for potential probiotic use. *Meat Sci.* 55: 297-300.
10. Loessner, M., S. Guenther, S. Steffan, and S. Scherer., 2003. A Pediocin-Producing *Lactobacillus plantarum* Strain Inhibits *Listeria monocytogenes* in a Multispecies Cheese. *J. App. Environ. Microbiology.* 69: 1854–1857.
11. Carvalho, A.A., R.A. Paula, H.C. Mantovani, C.A. Moraes, 2005. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by a lactic acid bacterium. *International Journal of Food Microbiology* 59, 301– 309
12. Aryanta, R.W., Graham H. Fleet and Ken A. Buckle, 1991. The occurrence and growth of microorganisms during the fermentation of fish sausage. *International Journal of Food Microbiology.* 13: 143-156.
13. Nursyam, H, S.B Widjanarko, Sukoso, and Yunianta., 2006. Combination of *Pediococcus acidilactici* 0110<TAT-1 and *Lactobacillus casei* NRRL-B1922 starter on the Microbiological characteristic of Clarias Catfish Fermented Sausage which Infected by *Listeria monocytogenes* ATCC-1194. National fisheries science seminar, Agriculture Faculty, Gajah Mada University, July 26<sup>th</sup> 2006.
14. Nursyam, H, S.B Widjanarko, Sukoso, and Yunianta., 2007. The use of *Pediococcus acidilactici* 0110<TAT-1 Starter on Catfish Fermented Sausage which Infected by *Escherichia coli* IFO-3301 and *Listeria monocytogenes* ATCC-1194. National fisheries science seminar, Fisheries Faculty-UB, Apryl 24<sup>th</sup> 2007.
15. Nichols, D.S., K.A. Presser, J.Olley, T. Ross, and T.A. McMeekin, 2002. Variation of Branched-Chain Fatty Acids Marks the Normal Physiological Range for Growth in *Listeria monocytogenes*. *Appl. and Environmental Mic.* p. 2809–2813.
16. Kronval, G., 1982. Analysis of single reference strain for determination of gentamicin regression line constants and inhibiton zone diameter breakpoints in quality control of disk diffusion antibiotic susceptibility testing. *J. Clin. Microbiol.* 16(5) 734-793.
17. Wang L.L., and E.A. Johnson., 1992. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by Fatty Acids and Monoglycerides. *App. Environ. Microbiology.* 12: 624-629.
18. Hamm. 1977. Analysis of Smoke and Smoken Foods. Pure and Apl.Chem. Pangomon Press. 49:1665-1666.
19. Montel, M., Reitz, J., Talon, R., Berdagué, J. and Rousset-Akrim, S., 1999. Biochemical activities of *Micrococcaceae* and their effects on the aromatic profiles and odours of a dry sausage model. *Food Microbiol.* 13: 489-499.
20. Sasser, M. 1990. Identification of bacteria through fatty acid analysis, p. 199-204. In Z. Klement, K. Rudolph, and D. Sands ed.), *Methods in phytobacteriology*. Akademiai Kiado, Budapest.
21. Welch, D.F., 1991. American Society for Microbiology Applications of Cellular Fatty

- Acid Analysis. *Clinical Microbiology Reviews*, Oct. 1991, p. 422-438.
22. Annous, B. A., L. A. Becker, D. O. Bayles, D. P. Labeda, and B. J. Wilkinson. 1997. Critical role of anteiso-C15:0 fatty acid in the growth of *Listeria monocytogenes* at low temperatures. *Appl. Environ. Microbiol.* 63:3887–3894.
  23. Gutierrez, J.A., 1999. Mechanisms conferring a *Rhodococcus* species with high resistance to benzene. School of Microbiology. UNSW. Australia. Pp. 242.
  24. Mastronicolis, S. K., J. B. German, and G. M. Smith. 1996. Diversity of the polar lipids of the food-borne pathogen *Listeria monocytogenes*. *Lipids* 31:635–640.
  25. Weintraub, A., U. Zahringer, H.-W. Wollenweber, U. Seydel, and E. T. Rietschel. 1989. Structural characterization of the lipid A component of *Bacteroides fragilis* strain NCTC 9343 lipopolysaccharide. *Eur. J. Biochem.* 183:425-431.
  26. Ross, J.A., Dalgaard., 2002. Dietary flavonoids, bioavailability, metabolic effect and safety. *Ann. Rev. Nutr.* 22: 19-34.
  27. Greenway, D. L. A., and K. G. H. Dyke. 1979. Mechanism of the inhibitory action of linoleic acid on the growth of *Staphylococcus aureus*. *J. Gen. Microbiol.* 115:233-245.
  28. Knapp, H. R., and M. A. Melly. 1986. Bactericidal effect of polyunsaturated fatty acids. *J. Infect. Dis.* 154:84-94